盐酸吗啡对大头金蝇生长发育的影响及其对死者死亡时间推断的意义

田　洁[1,2]，张孟余[1*]，何　斌[3]，李泽民[1]，王伯霞[1]
（1. 河北医科大学，石家庄　050017；2. 北京出入境检验检疫局，北京　100026；3. 北京中西医结合医院，北京　100039）

摘要：用盐酸吗啡注射家兔，处死后用家兔的不同组织饲养大头金蝇 *Chrysomya megacephala* 初孵幼虫，研究吗啡剂量对大头金蝇幼虫生长的影响及其在法医学中推断死者死亡时间方面的应用。结果显示，在 28℃下，取食处理组兔肉和肝脏的大头金蝇幼虫的体长和体重均于孵化后 28 h 开始在不同程度上大于对照组幼虫，这种趋势一直持续到幼虫末期。在实验的剂量范围内（2.67～10.66 mg/kg），吗啡可促进大头金蝇幼虫的生长。根据大头金蝇幼虫体长和体重推断死者死亡时间时，吗啡的这种影响可使推断值产生的最大偏差达 18 h。

关键词：大头金蝇；盐酸吗啡；法医昆虫学；死亡时间
中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2004)06-0715-04

Effect of morphine in rabbit tissues on growth of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) and its implication for estimation of postmortem intervals

TIAN Jie[1,2], ZHANG Meng-Yu[1*], HE Bin[3], LI Ze-Min[1], WANG Bo-Xia[1] (1. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China; 3. Beijing Hospital of Integrating Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing 100039, China)

Abstract: Rabbits were injected with morphine hydrochloride. After the rabbits were killed, their different tissues were used to feed the newly-hatched larvae of *Chrysomya megacephala*. The effect of morphine of different doses on the growth of larvae and its implication for the estimation of postmortem interval (PMI) were studied. The deviation of PMI estimation based on larvae growth was calculated. The results showed that at 28℃, starting at 28 h during the growth-circle the lengths and weights of larvae that fed on the muscles and livers of the rabbits injected with morphine hydrochloride were larger than those from the control in different extents and this trend continued into the late phase of larvae growth-circle. Within the range of morphine doses designed for this experiment (2.67－10.66 mg/kg), morphine could accelerate the growth of larvae. Morphine could result in a maximum PMI deviation of 18 hours when the growth rates of the larvae was used to judge PMI.

Key words: *Chrysomya megacephala*; morphine hydrochloride; forensic entomology; postmortem interval

法医昆虫学(forensic entomology)是推断死者死亡时间(postmortem interval, PMI)的有效工具。过去 30 年里，欧洲昆虫学家提出了用尸体上蝇蛆虫龄推算 PMI 的方法，法医昆虫学得到迅速发展。在我国，王江峰等(2002a, 2002b)也研究了巨尾阿丽蝇 *Aldrichina grahami* 幼虫和蛹的发育形态在 PMI 推断中的应用。随着现代微量分析技术在尸食性昆虫体内药物/毒物的分析、检测上应用，逐渐形成了法医昆虫毒理学(forensic entomotoxicology)这一新兴分支学科(胡萃，2000)。近年来的研究表明，尸体中存在某些药物/毒物会影响尸食性蝇类的生长发育。如不考虑药物/毒物对蝇类生长发育的影响，PMI 的推断就会产生偏差(Goff *et al*., 1989, 1991, 1992, 1993, 1997; Lord, 1990; Bourel *et al*., 1999; Carvalho *et al*., 2001; Musvasva *et al*., 2001)。

Goff 等(1991)的研究表明，海洛因会加快棕尾别麻蝇 *Boettcherisca peregrina* 的生长，延长其蛹期。Bourel 等(1999)的研究发现，盐酸吗啡减慢了丝光

作者简介：田洁，女，1979 年 9 月生，河北曲阳人，硕士，研究方向为病原生物学，E-mail：tianjie0808@sina.com.cn
* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail：zhangmeng-yu@126.com
收稿日期 Received：2004-04-28；接受日期 Accepted：2004-08-09

绿蝇 *Lucilia sericata* 和红头丽蝇 *Calliphora vicina* 的生长。

盐酸吗啡是阿片类药物依赖患者常用的毒品之一，近年来与毒品有关的死亡案件越来越多，这些案件往往发生数天后才被报告，由于尸体的腐烂，无法以常规的法医学手段推断 PMI，此时不得不借助于法医昆虫毒理学的知识。大头金蝇 *Chrysomya megacephala* 为我国大部分地区夏季最常见的蝇种，幼虫粪食性兼尸食性（范滋德和席德基，1959），是尸体上十分常见的蝇类，也是最先到达尸体的蝇类之一，有很重要的法医学意义。本实验研究了盐酸吗啡对大头金蝇生长发育的影响，为法医昆虫学中 PMI 的准确估计提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

盐酸吗啡的致死量为 0.2 g/kg，根据‘人和动物按体表面积折算的等效致死量”，计算出家兔的致死量为 5.33 mg/kg。河北省实验动物中心提供 4 只家兔，每只体重约为 3 kg。1 只设为对照，不注射任何药品即猛击枕部迅速处死。其余 3 只分别经耳缘静脉注射 8 mg（1/2 致死量）、16 mg（致死量）、32 mg（加倍致死量）盐酸吗啡。盐酸吗啡由河北医科大学药理教研室提供，沈阳第一制药厂生产。药物处理的家兔于注射盐酸吗啡 30 min 后处死，处死方法同对照家兔。取每只家兔的肌肉和肝脏，于 – 20℃ 下分别保存。

1.2 幼虫标本的制备

从自然界诱捕大头金蝇，用第 3 代成蝇进行实验。在 28℃ 下，用猪肉诱成蝇产卵，将 30 min 内产出的卵块移至各组肌肉和肝脏上，每组卵块约含 300 粒卵。幼虫孵出 16 h 起，每隔 12 h 留一次标本，每组每次 10 头幼虫，直至幼虫到达停食期（其标志是幼虫不再取食，四处爬动，寻找化蛹场所）。将幼虫用 80℃ 的热水烫死后，放入 70% 的酒精中保存。

1.3 幼虫标本的测量及统计学分析

从酒精溶液取出幼虫标本，吸干，用游标卡尺测量体长，用分析天平称重。应用方差分析进行组间比较，结果由 SAS 6.12 软件处理得出。

2 结果

在 28℃ 下，大头金蝇卵块移至家兔肌肉和肝脏上均在 12 h 内孵化。

2.1 幼虫体长变化

取食家兔肌肉的幼虫孵化后 28 h 之前，体长差异不显著（$P > 0.05$）。28 h 时，高浓度吗啡处理组的 2 组幼虫体长显著大于低浓度处理组和对照组（$P < 0.05$）；取食 40 h 后，幼虫体长随着处理的吗啡剂量增加而增加（表 1）。

表 1 取食注射不同浓度盐酸吗啡家兔的肌肉时大头金蝇幼虫的生长（28℃ ± 1℃）

Table 1 Growth of *Chrysomya megacephala* larvae reared on muscles of the rabbits injected with different doses of morphine hydrochloride（28℃ ± 1℃）

吗啡剂量（mg/kg） Morphine dose	幼虫年龄 Larval age (h)					
	16	28	40	52	64	76
体长 Body length (mm)						
0 (CK)	4.2 ± 0.2 a	6.4 ± 0.1 a	7.6 ± 0.2 a	10.3 ± 0.4 a	13.5 ± 0.5 a	14.8 ± 0.5 a
2.67	4.2 ± 0.3 a	6.2 ± 0.1 a	8.5 ± 0.3 b	12.6 ± 0.3 b	13.7 ± 0.7 b	15.5 ± 0.5 b
5.33	4.2 ± 0.2 a	6.9 ± 0.4 b	8.9 ± 0.5 b	11.5 ± 0.5 b	14.4 ± 0.4 b	16.0 ± 0.4 b
10.66	4.2 ± 0.1 a	7.0 ± 0.2 b	9.8 ± 0.4 c	13.8 ± 0.2 c	15.1 ± 0.5 c	16.8 ± 0.4 c
体重 Body weight (mg)						
0 (CK)	221.1 ± 0.1 a	222.8 ± 0.1 a	223.8 ± 0.1 a	228.9 ± 0.1 a	242.3 ± 2.4 a	263.1 ± 6.2 a
2.67	221.6 ± 0.1 a	222.8 ± 0.2 a	223.7 ± 0.1 a	230.4 ± 1.0 b	249.3 ± 2.3 b	270.4 ± 2.8 b
5.33	221.6 ± 0.1 a	222.8 ± 0.2 b	224.7 ± 0.1 b	231.4 ± 2.1 b	246.8 ± 1.5 b	272.4 ± 5.1 b
10.66	221.7 ± 0.2 a	223.1 ± 0.3 b	224.9 ± 0.5 b	234.5 ± 1.1 c	261.5 ± 2.7 c	284.2 ± 5.1 c

表内数据是平均值 ± 标准差，同列数据后有不同字母表示差异显著（$P < 0.05$），后同。The data in the table indicate mean ± *SD* and those in the same column followed by different letters significantly differ at $P < 0.05$. The same for following tables.

取食家兔肝脏的幼虫孵化后 28 h 之前，体长差异不显著（$P > 0.05$）。28 h 后，高浓度吗啡处理组的 2 组幼虫体长显著大于低浓度处理组和处理组（$P < 0.05$），幼虫体长随着处理的吗啡剂量增加而增加（表 2）。

幼虫体长（y）与取食时间（x）的关联配合曲线

方程 $y = a + bx + cx^2$(表3)，可用于PMI的推断。按照表3中的方程式计算，当以幼虫体长为依据推断PMI时，对于取食肌肉的实验组幼虫，PMI推断值与对照组最多可相差14 h；取食肝脏的实验组幼虫，PMI推断值最多可相差18 h。

表2 取食注射不同浓度盐酸吗啡家兔的肝脏时大头金蝇幼虫的生长(28℃±1℃)

Table 2 Growth of *Chrysomya megacephala* larvae reared on livers of the rabbits injected with different doses of morphine hydrochloride(28℃±1℃)

吗啡剂量(mg/kg) Morphine dose	幼虫年龄 Larval age (h)					
	16	28	40	52	64	76
体长 Body length (mm)						
0 (CK)	4.2±0.4 a	5.5±0.1 a	6.4±0.1 a	10.4±0.5 a	13.6±0.5 a	14.8±0.5a
2.67	4.2±0.4 a	5.1±0.1 a	7.7±0.5 a	11.7±0.4 a	13.8±0.6 a	15.4±0.2 a
5.33	4.2±0.3 a	5.7±0.1 b	8.9±0.3 b	13.1±0.3 b	15.6±0.2 b	17.2±0.4 b
10.66	4.2±0.1 a	6.8±0.2 c	10.6±0.2 c	14.0±0.4 c	16.9±0.3 c	17.2±0.6 b
体重 Body weight (mg)						
0 (CK)	221.6±1.0 a	222.9±1.0 a	223.1±1.7 a	235.1±0.8 a	253.2±1.4 a	268.6±7.6 a
2.67	221.6±1.1 a	222.7±1.3 a	229.4±1.4 b	242.6±0.8 a	262.0±7.8 a	274.7±3.9 a
5.33	221.6±0.8 a	223.0±1.6 a	231.4±2.0 b	253.2±7.4 b	276.2±8.1 b	285.6±3.4 b
10.66	221.6±1.4 a	225.7±2.0 b	235.7±2.0 c	258.1±5.1 b	285.0±5.6 b	288.2±7.0 b

表3 大头金蝇幼虫的生长(y)与在注射不同浓度盐酸吗啡家兔的不同组织上取食时间(h)(x)的关系

Table 3 Growth (y) of *Chrysomya megacephala* larvae in relation to feeding time (h) (x) on different tissues of the rabbits injected with different doses of morphine hydrochloride

吗啡剂量(mg/kg) Morphine dose	取食肌肉 Feeding on muscle	取食肝脏 Feeding on liver
体长 Larval length (mm)		
0 (CK)	$y=0.1111+0.1330x+0.0004x^2$	$y=1.0990+0.0684x+0.0011x^2$
2.67	$y=-3.4765+0.2813x-0.0007x^2$	$y=-1.6924+0.1834x+0.0002x^2$
5.33	$y=-1.9908+0.2276x-0.0002x^2$	$y=-3.7140+0.2686x-0.0003x^2$
10.66	$y=-5.6898+0.3828x-0.0014x^2$	$y=-7.5260+0.4522x-0.0019x^2$
体重 Larval weight (mg)		
0 (CK)	$y=248.8568-1.4358x+0.0180x^2$	$y=242.6321-1.2396x+0.0176x^2$
2.67	$y=253.3787-1.6808x+0.0213x^2$	$y=227.1187-0.6208x+0.0135x^2$
5.33	$y=254.9264-1.7396x+0.0218x^2$	$y=215.1829-0.2217x+0.0122x^2$
10.66	$y=256.9419-1.9408x+0.0257x^2$	$y=201.7737+0.3621x+0.0078x^2$

2.2 幼虫体重变化

28 h之前，取食家兔肌肉的4组幼虫体重差异不显著($P>0.05$)。28 h时，高浓度吗啡处理组的2组幼虫体重显著大于低浓度处理组和对照组($P<0.05$)；40 h后，幼虫体重随着处理的吗啡剂量增加而增加(表1)。

28 h之前，取食家兔肝脏的4组幼虫的体重差异不显著($P>0.05$)。28 h时，最高浓度吗啡处理组的幼虫体重显著大于其他3组。40 h后，幼虫体重随着处理的吗啡剂量增加而增加(表2)。

幼虫体重(y)与取食时间(x)的关联配合曲线方程 $y = a + bx + cx^2$(表3)，可用于PMI的推断。按表3中的方程式计算，当以幼虫体长为依据推断PMI时，对于取食肌肉的实验组幼虫，PMI推断值与对照组最多可相差12 h；取食肝脏的实验组幼虫，PMI推断值最多可相差18 h。

2.3 大头金蝇的发育历期

4组幼虫孵化后取食家兔肌肉时均在82 h左右达停食期；190 h左右，高浓度吗啡处理的2组观察到成蝇半数羽化；193 h左右，其他2组成蝇半数羽化。

幼虫孵化后取食肝脏时，吗啡剂量为5.33 mg/kg组幼虫在80 h左右达停食期，83 h左右其他3组达停食期；188 h左右，吗啡处理的3组成蝇半数羽化，192 h左右对照组成蝇半数羽化。

3 讨论

3.1 吗啡剂量对大头金蝇幼虫生长的影响及其法医学意义

28 h之前，处理组和对照组幼虫体长和体重差异不显著的结果可能由于大头金蝇幼虫在家兔尸体材料上取食时间尚短，盐酸吗啡还未对幼虫的生长发育造成可观察到的影响。以取食含有盐酸吗啡的尸体材料的幼虫体长或体重为依据，不会对PMI的推断产生明显影响。

从28 h开始，处理组幼虫的生长速率高于对照组，盐酸吗啡加快了幼虫的生长速率，与Goff等人的研究结果较为相似（Goff *et al.*，1989，1991，1992，1993，1997）。结果提示，组织中盐酸吗啡含量较高时，幼虫生长速率较快，对PMI的推断影响也较大。且随着生长时间的延长，实验组幼虫与对照组幼虫达到相同体长或体重所需时间相差越来越大，对PMI推断的影响越来越大。在实际案例分析中，如果从死者的体液、组织及现场的大头金蝇幼虫或蛹中测到盐酸吗啡，并以幼虫体长或体重为参考推断PMI时，应从尸体组织中盐酸吗啡的含量、幼虫在尸体上取食时间等全面考虑盐酸吗啡对幼虫生长发育的影响，及其对PMI推断造成的偏差。

盐酸吗啡增加了幼虫的最大体长。在食物充足的条件下，某种蝇类幼虫在一定温度下，所能达到的最大体长有一定的范围。实验结果显示，当尸体组织中含有盐酸吗啡时，在其上取食的幼虫可达到超出正常范围的最大体长。在侦破工作中，当现场尸体上出现体长超出正常范围的大头金蝇幼虫时，可提示其在生长发育过程中可能遇到了一些异常情况，尸体中含有类似于盐酸吗啡的促进幼虫生长发育的药物/毒物则是应考虑的因素之一。不过目前尚未见这方面的研究报道。

3.2 吗啡对大头金蝇发育历期的影响及其法医学意义

结果表明吗啡对大头金蝇的发育历期没有显著影响。本次实验温度为28℃，大头金蝇发育历期较短，药物/毒物对幼虫的有效作用时间较短。在温度较低的情况下，吗啡浓度对大头金蝇的发育历期是否有显著影响，从而使PMI的推断发生偏差仍有待于进一步研究。

最后要说明的是，本实验设计的是家兔急性中毒模式，而在实际案例中，吗啡急性中毒和慢性中毒的情况都存在，后者甚至比前者更为普遍，且目前法医昆虫界所用的研究材料多用猪及其组织，因此在今后的试验中可通过改进动物模型的方法使之更接近实际情况。试验中家兔的吗啡注射量局限于一定范围，吗啡剂量超出此范围时，吗啡对幼虫的生长发育的影响是否与此相同尚待进一步研究。

参考文献（References）

Bourel B，Hedouin V，Martin-Bouyer L，Becart A，Tournel G，Deveaux M，Villet MH，1999. Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata*（Diptera：Calliphoridae）. *J. Forensic Sci.*，44(2)：354－358.

Carvalho ML，Linhares AX，Trigo JR，2001. Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. *J. Forensic Sci. Int.*，120：140－144.

Fan ZD，Xi DJ，1959. The breeding habits of the common flies in Shanghai district. *Acta Entomologica Sinica*，9(4)：342－363.［范滋德，席德基，1959. 上海地区常见蝇类的滋生习性. 昆虫学报，9(4)：342－363］

Goff ML，Omori AL，Goodbrod JR，1989. Effect of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina*（Dipt. Sarcophagidae）. *J. Med. Entomol.*，26(2)：91－93.

Goff ML，Brown WA，Hewadikaram KA，Omori AI，1991. Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina*（Dipt. Sarcophagidae）and implications of this effects on estimation of postmortem intervals using arthropod development patterns. *J. Forensic Sci.*，36(2)：537－542.

Goff ML，Brown WB，Omori AI，1992. Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis*（Dipt. Sarcophagidae）and implications of this effect on the estimations of postmortem intervals. *J. Forensic Sci.*，37(3)：867－872.

Goff ML，Brown WB，Omori AI，Lapointe DA，1993. Preliminary observations of the effect of amitriptyline in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis*（Dipt. Sarcophagidae）and implications of this effect on the estimations of postmortem intervals. *J. Forensic Sci.*，38(2)：316－322.

Goff ML，Miller ML，Paulson JD，Lord WD，Richards E，Omori AI，1997. Effects of 3，4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis*（Dipt. Sarcophagidae）and detection of the drug in postmortem blood，liver tissue，larvae，and puparia. *J. Forensic Sci.*，42(2)：276－280.

Hu C，2000. Forensic Entomology. Chongqing：Chongqing Press. 271－280.［胡萃，2000. 法医昆虫学. 重庆：重庆出版社. 271－280］

Lord WD，1990. Case studies of the use of insects in investigations. In：Catts EP，Haskell NH eds. Entomology and Death：A Procedural Guide，Clemson，SC：Joyce's Print Shop. 9－37.

Musvasva E，Williams KA，Muller WJ，Villet MH，2001. Preliminary observations on the effects of hydrocortisone and sodium methohexital on development of *Sarcophaga*（*Curranea*）*tibialis* Macquart（Dipt. Sarcophagidae），and implications for estimating postmortem interval. *J. Forensic Sci. Int.*，120：37－41.

Wang JF，Hu C，Chen YC，Min JX，Li JT，2002a. Chronometrical morphology of *Aldrichina grahami* and its application in the determination of postmortem interval. *Acta Entomologica Sinica*，45(2)：265－270.［王江峰，胡萃，陈玉川，闵建雄，李俊涛，2002a. 巨尾阿丽蝇幼虫发育形态学及其在死者死亡时间推断中的应用. 昆虫学报，45(2)：265－270］

Wang JF，Hu C，Chen YC，Min JX，Li JT，2002b. Application of the pupal morphogenesis of *Aldrichina grahami*（Aldrich）to the deduction of postmortem interval. *Acta Entomologica Sinica*，45(5)：696－699.［王江峰，胡萃，陈玉川，闵建雄，李俊涛，2002b. 用巨尾阿丽蝇蛹期发育形态来推断死者死亡时间. 昆虫学报，45(5)：696－699］

（责任编辑：袁德成）